[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Lentz.)

Über den Erreger und die Diagnose des Maltafiebers.

Von

Oberstabsarzt Dr. K. Saisawa
aus Japan.

(Hierzu Taf. II.)

Seit Bruce im Jahre 1887 im Blute von Maltafieberkranken und in der Milz von an Maltafieber gestorbenen Patienten einen Coccus entdeckt und diesen als den Erreger der Krankheit beschrieben hat, beschäftigten sich besonders englische Autoren mit der weiteren Erforschung dieser Krankheit. Von allen Forschern wurde der von Bruce gefundene Mikrobe zweifelfrei als Erreger der Krankheit anerkannt. Nur über seine Stellung im Bakteriensystem gehen die Ansichten der Autoren auseinander. Andererseits finden sich in der Literatur z. T. so merkwürdige und unseren Kenntnissen derselben Verhältnisse bei anderen Infektionskrankheiten widersprechende Angaben über die diagnostische Bedeutung der Agglutinationsreaktion des Krankenserums, daß es auch aus diesem Grunde lohnend erschien, in die nochmalige Prüfung dieser Fragen einzutreten. Ich habe deshalb auf Veranlassung und unter Leitung von Hrn. Prof. Dr. Lentz systematische Untersuchungen über den Erreger des Maltafiebers angestellt. Zur Verfügung standen mir vier von ihm gesammelte Stämme des Maltafiebererregers, und zwar je ein Stamm von Wright, aus dem Blute eines Kranken gezüchtet, und von Nicolle (Tunis), von einer Ziege stammend, und zwei von Bitter (Cairo), Bitter III und V, ebenfalls von Ziegen stammend; außerdem ein von Prof. Kräl mir in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellter Stamm. Ferner habe ich selbst aus dem Blute einer an Maltafieber erkrankten Patientin der Berliner Charité einen weiteren Stamm des Maltafiebererregers frisch gezüchtet, so daß ich zwischen diesem und den älteren Laboratoriumsstämmen Vergleiche anstellen konnte.

Morphologie.

Ob der Erreger des Maltafiebers zu den Kokken oder Bazillen zu zählen ist, darüber sind die Autoren verschiedener Meinung. Die meisten

englischen Autoren, wie Bruce, Eyre u. a. rechnen ihn zu den Mikrokokken. Die auch von ihnen beobachteten länglichen, also bazillären Formen nannten sie Kokkobazillen und nahmen zur Erklärung ihrer Form an, daß sie junge, in der Zweiteilung begriffene Individuen seien, deren Trennung noch nicht vollzogen wäre. Die in alten Kulturen auf Gelatine usw. oder auf Nährböden mit ungeeigneter Reaktion gefundenen Stäbchen betrachteten sie dagegen als Involutionsformen. Durham hat in Gelatine- oder Bouillonkultur und Babes auch in 2-tägiger, also immerhin älterer Bouillonkultur ebenfalls solch charakteristisches bazilläres Wachstum konstatiert. Der letztere hat infolgedessen den Namen *Microbacterium melitense* statt *Micrococcus melitensis* vorgeschlagen. Ebenso bezeichnet Gottschlich den Erreger des Maltafiebers als *Bacillus*.

Bei meinen Untersuchungen zeigten sowohl alle Laboratoriumsstämme, als auch der von mir gezüchtete frische Stamm meistens kurze Stäbchen, kürzer als Influenzabazillen, worauf ich nach der Beschreibung über das Wachstum auf künstlichen Nährböden noch näher zurückkomme. Alle Stämme ließen Eigenbewegung vermissen; es sind durch die Zettnowsche Färbung keine Geißeln festzustellen, aber im hängenden Tropfen kann man lebhaft molekulare Bewegung beobachten. Sporen- und Kapselbildung habe ich nie bemerkt. Die Bazillen werden sehr gut durch basische Anilinfarbstoffe gefärbt, besonders durch Karbolfuchsin, Löffler-sche Methylenblau- und Fuchsinlösung; sie sind weder alkohol- noch säurefest und gramnegativ.

Kulturelles Verhalten.

Auf schwach alkalischem Fleischwasserpeptonagar wachsen innerhalb 48 bis 72 Stunden im Brutofen bei 37° C kleine Kolonien. Sie sind rundlich, durchsichtig, kleinen Wassertropfen ähnlich. Allmählich werden sie größer, erreichen nach einer Woche Stecknadelkopfgröße und darüber und zeigen eine gelbliche bis bräunliche Farbe. Die auf Gelatine gezüchteten Kolonien werden erst nach 7 bis 9 Tagen sichtbar. Tief gelegene Kolonien sind gewöhnlich rund, manchmal zeigen sie Linsenform. Es findet keine Verflüssigung statt, und es entwickelt sich kein Geruch. Bei der Stichkultur in Gelatine und Agar wachsen die Bakterien längs des Stichkanals etwa bis zu $\frac{3}{4}$ seiner Länge; sie zeigen in der Nähe der Oberfläche ein besseres Wachstum, im unteren Teil läßt es allmählich nach. In strenger Anaerobenkultur gedeihen die Bakterien nicht. In Bouillon rufen sie nach 2 Tagen eine zunächst gleichmäßige leichte Trübung hervor. Nach Verlauf von einigen Tagen jedoch zeigt sich an der Oberfläche deutlich eine stärkere Trübung als in den tieferen Schichten. Später entsteht ein geringer feinkörniger Bodensatz; eine Kahmhaut bildet

sich nicht. In alter Bouillonkultur macht sich ein fader Geruch bemerkbar. In Milch entwickeln sich die Bakterien gut. Es tritt keine Koagulation ein. Nach 4 Wochen hellt sich aber die Milch deutlich auf wie bei der Kultur des Paratyphus. Auf Kartoffeln zeigen die Stämme ein kümmerliches Wachstum und bilden später einen grauen oder schmutziggelben Belag. Lackmusmolke wird nach etwa 4 Tagen blau, woraus sich auf Alkalibildung schließen läßt. In 1prozentiger Peptonlösung wachsen die Bazillen schlecht. In Pepton- oder Bouillonkultur läßt sich keine Indolbildung nachweisen. In Traubenzucker- und Neutralrot-Traubenzucker-Agar tritt keine Gasbildung ein, das Wachstum ist auf diesen Nährböden gut. Nach 7 bis 10 Tagen tritt in den Neutralrot-Röhrchen in der Nähe der Oberfläche eine schwach gelbliche Verfärbung ein. In verschiedenen 1 Prozent-kohlehydrathaltigen Nährböden (2 Prozent Pepton-, 1 Prozent Nutroselackmuskung) konnte ich keine Säurebildung beobachten; dagegen zeigten Dextrose- und Laktoseröhrchen nach 8 Tagen eine blaue Farbe, während Maltose, Lävulose, Saccharose, Mannit, Dextrin, Gallaktose, Isodulcit, Inulin und Inosit unverändert blieben. Diese Resultate stimmen mit denen von Eyre überein. Auf Löfflerschem Serum (Rinderserum) wachsen die Bakterien unter Bildung einer mehr weißlichen Kultur, ohne Peptonisierung des Nährbodens. Auf den verschiedenen tierischen und menschlichen Seris, sowie bluthaltigen Nährböden wachsen sie etwas besser als auf gewöhnlichem Agar. Um die besten und geeignetsten Nährböden zu finden, habe ich außer den oben erwähnten Seris und bluthaltigen Medien (besonders Taubenblut, Ziegenblut), Nährböden aus Ascitesflüssigkeit und wässerigem Extrakt aus der Milz, Leber und dem Fleisch eines Hammels, ferner Nährböden aus der Molke von Ziegenmilch, sowie noch verschiedene zuckerhaltige Nährböden untersucht. Am besten entwickelten sich die Bakterien auf dem von mir hergestellten Traubenzucker (1 Prozent)-Chapoteaut-Pepton (2 Prozent)-Agar, und ebensogut auf dem von Hughes, Horrocks und Kennedy empfohlenen Traubenzucker-Lackmus-Nutrose-Pepton-Agar. Im allgemeinen wachsen die beiden von Bitter erhaltenen Stämme, sowie der aus dem Blute der Patientin gewonnene langsamer als die anderen Stämme.

Wenden wir uns nun noch einmal der Bakterienform zu, so muß ich vorausschicken, daß ich zu ihrem Studium möglichst junge Kulturen (16 Std.) und von auf festen Nährböden gewachsenen ganz isolierte Kolonien sowohl frisch im hängenden Tropfen, als auch in getrocknetem und gefärbtem Zustande untersucht habe. In letzterem Falle wurde das Präparat an der Luft schnell getrocknet, durch eine Flamme ganz vorsichtig fixiert und mit den verschiedenen basischen Anilinfarbstoffen gefärbt. In den hängenden Tropfen der Kochsalzlösungsemulsion findet man

außer ganz kleinen, kokkenähnlichen Bakterien, die in Länge und Breite nur geringe Unterschiede zeigen, auch eine ganze Anzahl von deutlich erkennbaren Stäbchen. Hie und da bilden 5 bis 8 Individuen kleine Ketten. Bei den aus den Wrightschen und Nicolleschen Stämmen gewonnenen Kulturen, welche üppig wachsen, überwiegen die Stäbchen; dagegen war bei den Kulturen, die aus den Bitterschen Stämmen, sowie aus dem von der Kranken gewonnenen Stamm gezüchtet waren, ein langsames Wachstum und ein Überwiegen der Kokkenform festzustellen. Im gefärbten Präparat erscheinen die Bakterien etwas kleiner als im hängenden Tropfen. Die kokkenartigen Individuen haben eine Länge von ca. 0.3 bis 0.45 μ und eine Breite von 0.2 bis 0.3 μ . Die Stäbchen erreichen eine Länge von etwa 0.5 bis 0.7 μ , manchmal sogar 1.0 μ . Die längeren Formen zeigen nicht selten eine Andeutung von Polfärbung. Daß ein langsames Trocknen des Deckglaspräparates eine auffallende Verlängerung der Bazillen zur Folge hätte, wie Eyre das angibt, konnte ich nicht beobachten. Bei der Geißelfärbung nach Zettnow, bei welcher sich bekanntlich das reduzierte Silber um das Ektoplasma des Bacteriums lagert, so daß das Bakterium vergrößert erscheint, tritt die Stäbchenform auch bei den kokkenähnlichen Individuen noch deutlicher hervor (vgl. Taf. II, Fig. 1), während zur Kontrolle ebenso behandelte Staphylokokken stets eine kreisrunde Form zeigen (vgl. Taf. II, Fig. 2). Stellt man das Präparat aus jungen isolierten Kolonien her, welche im oberen Abschnitt eines Schrägagarröhrchens liegen, wo dessen Oberfläche ganz trocken ist, so zeigen fast alle Bakterien kokkenähnliche Form (vgl. Taf. II, Fig. 3); dagegen zeigt das Präparat von den Kolonien, welche im unteren Teil in der Nähe des Kondenswassers liegen, meistens Stäbchenform (vgl. Taf. II, Fig. 4).

Die auf frische Nährböden überpflanzten Kulturen zeigen, gleichgültig von welchen der Kolonien sie angelegt werden, wieder teils Kokken- teils Stäbchenformen. Die mitgeteilten Beobachtungen legen den Schluß nahe, daß die Bakterien unter günstigeren Bedingungen in Stäbchenform wachsen. In Bouillon sieht man ungefärbt außer isolierten Kokken und Stäbchen, Diploformen, Kettenbildung, verdickte, ovale und kolbige Formen, wie es Babes und Durham beschrieben haben. In Gelatinekulturen bemerkt man ebenfalls nicht nur Kokken, sondern auch eine große Anzahl von kurzen Stäbchen. Es wurde also auf allen Nährmedien ein reichliches Vorkommen der Stäbchenform konstatiert, ohne daß aus dem Alter der Kultur oder sonstigen Merkmalen der Schluß gerechtfertigt gewesen wäre, daß in der Kultur bereits wesentliche Degenerationsvorgänge Platz gegriffen hätten. Deshalb und vor allem auch auf Grund des Ergebnisses der Ektoplasmafärbung bin auch ich mit Babes und Gottschlich der Überzeugung, daß beim Erreger des Maltafiebers ebenso wie

beim Prodigiosus die Stäbchenform die normale ist, und er daher den Kurzstäbchen (Kokkobazillen) zugezählt werden muß. Ich möchte ihn deshalb, dem Vorgange von Babes folgend, auch als Microbacterium oder kurz Bacterium melitense bezeichnen; die alte Bezeichnung als Micrococcus melitensis muß ich, da sie zugleich eine falsche Klassifizierung dieses Erregers enthält, als unrichtig ablehnen.

Tierversuche.

Eyre und Durham haben die Bakterien des Maltafiebers an Nagetieren intrakraniell, intraperitoneal, intravenös und subkutan injiziert und so ihre Pathogenität gegenüber diesen Tieren bewiesen. Ich habe die gleichen Versuche mit 3tägiger frischer Kultur an Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen vorgenommen. Die Resultate sind folgende (vgl. Tabellen Ia bis c):

Tabelle Ia. Versuch an Kaninchen.

Nr.	Gewicht in grm	Impfweise	Geimpfter Stamm und Dosis	Resultat
1	3000	intrakraniell	Stamm Wright 1½ Öse	nach 5 Tagen tot
2	3000	„	„ Bitter III 1 „	„ 4 „ „
3	3000	„	„ Nicolle 1 „	„ 7 „ „
4	2000	intravenös	Stamm Bitter V 4 Ösen	nach 5 Tagen tot
5	2500	„	„ „ III 4 „	„ 3 „ „
6	2000	„	„ Wright 4 „	„ 6 „ „
7	2500	intraperiton.	Stamm Bitter III 4 Ösen	lebt
8	2000	„	„ „ V 4 „	„
9	2000	subkutan	Stamm Bitter V 5 Ösen	lebt
10	2000	„	„ Nicolle 5 „	„

Tabelle Ib. Versuch an Meerschweinchen.

Nr.	Gewicht in grm	Impfweise	Geimpfter Stamm und Dosis	Resultat
1	400	intrakraniell	Stamm Bitter V 1 Öse	nach 3 Tagen tot
2	450	„	„ Wright 1 „	„ 3 „ „
3	260	intraperiton.	Stamm Wright 3 Ösen	lebt
4	265	„	„ Bitter III 4 „	nach 4 Tagen tot
5	280	„	„ Charité 3 „	lebt
6	300	intravenös	Stamm Nicolle 2 Ösen	lebt
7	320	„	„ Bitter V 2 „	nach 3 Tagen tot
8	280	subkutan	Stamm Wright 4 Ösen	lebt
9	265	„	„ Bitter V 4 „	„
10	250	„	„ Charité 4 „	„

Tabelle Ic.
Versuch an Mäusen.

Nr.	Gewicht in grm	Impfweise	Geimpfter Stamm und Dosis	Resultat
1	20	intraperiton.	Stamm Wright 1.0 Öse	nach 3 Tagen tot
2	19	"	" " 0.5 "	" 5 " "
3	21	"	" " 0.25 "	lebt
4	19	"	" Bitter III 1.0 "	nach 4 Tagen tot
5	20	"	" " 0.5 "	" 5 " "
6	21.5	"	" Nicolle 1.0 "	lebt
7	24	"	" Bitter V 1.0 "	nach 4 Tagen tot
8	25	"	" " 0.5 "	" 6 " "
9	21	"	" Charité 1.0 "	" 4 " "
10	23	"	" " 0.5 "	lebt
11	19.5	"	" Kräl 1.0 "	"
12	22	subkutan	Stamm Wright 2 Ösen	nach 3 Tagen tot
13	21	"	" " 1 Öse	lebt
14	20	"	" Nicolle 2 Ösen	nach 5 Tagen tot
15	21	"	" Bitter III 2 "	" 5 " "
16	22	"	" " V 1 Öse	lebt
17	21	"	" Kräl 2 Ösen	nach 4 Tagen tot
18	24	"	" Charité 2 "	" 3 " "
19	25	"	" " 1 Öse	lebt

Aus obigen Tabellen geht hervor, daß Kaninchen und Meerschweinchen nach intrakranieller Impfung regelmäßig binnen 3 bis 7 Tagen zugrunde gingen; die Tiere magerten dabei ziemlich stark ab. Nach intravenöser, bzw. intraperitonealer Einspritzung noch recht großer Mengen der Bakterien starb wohl noch die Mehrzahl der Tiere unter akutem Verlauf, doch blieben einige von ihnen auch am Leben; bei subkutaner Impfung dagegen starben nur einige Mäuse, dagegen kein Kaninchen und kein Meerschweinchen. Während einer 2monatlichen Beobachtung ist keines der geimpften und wiedergenesenen Tiere noch späterhin gestorben.

Die anatomischen Veränderungen bei den infolge der Impfung gestorbenen Tieren sind nur wenig charakteristisch. Bei Kaninchen und Meerschweinchen findet man nach intrakranieller Impfung die Meningen im allgemeinen getrübt und ödematös, ihre Blutgefäße strotzend gefüllt. Die Pia ist in der Umgebung der geimpften Stelle mit eitrigem Belage bedeckt. Das Gehirn ist in der Umgebung der Injektionsstelle erweicht. Die Oberfläche eines durch das Gehirn gelegten Schnittes zeigt abnorme Blutfüllung des Gehirns und zahlreiche Blutpunkte. Diese Veränderungen stimmen mit den Erscheinungen der akuten Meningitis und Encephalitis überein. An sonstigen Veränderungen fallen besonders die starke Er-

weiterung und Blutfüllung der Gefäße in der Subkutis und in den Bauchorganen auf. Die Leber und Milz sind vergrößert und blutreich. Die Niere ist etwas vergrößert. Die Lunge ist hyperämisch, das Herz dilatiert.

Bei intravenöser und intraperitonealer Injektion zeigten die Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse starke Hyperämie des subkutanen und inneren Blutgefäßsystems. Die Bauchhöhle enthält nach intraperitonealer Impfung geringe Mengen von getrübttem Exsudat, in dem sich reichlich Bakterien, z. T. intrazellulär gelagert, finden. Die Milz und Leber sind deutlich vergrößert. Bei nach subkutaner Impfung gestorbenen Mäusen ist besonders die Erweiterung und Füllung der subkutanen Blutgefäße in der Umgebung der Impfstelle auffallend. Die verimpften Bakterien konnten aus Organen — Gehirn, Lunge, Milz, Leber, Niere, Harnblase und Herzblut — wieder gezüchtet werden. Die Tiere waren also an einer Septikämie zugrunde gegangen. Bei der Sektion der am Leben gebliebenen, erst später getöteten Tiere konnte ich außer einer geringen Vergrößerung der Milz keine besonderen Veränderungen der Organe beobachten. Aus den verschiedenen Organen, besonders aus der Milz, konnte ich bei diesen Tieren die verimpften Bakterien nicht wieder herauszüchten.

Immunitätsreaktionen.

A. Agglutinationsreaktion.

Seit Wright die Agglutinationsreaktion im Serum von Maltafieberkranken festgestellt hat, wurde sie bei kranken Menschen und Tieren in großem Umfange geprüft. Basset-Smith gibt an, daß der Agglutinationstiter der Krankenserum zwischen $\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{2000}$ schwankt, nach Nicolle ist die Schwankung größer: $\frac{1}{5}$ bis $\frac{1}{2000}$ und nach Hayat: $\frac{1}{50}$ bis $\frac{1}{2000}$; Shaw fand Schwankungen von $\frac{1}{20}$ bis $\frac{1}{2000}$ und Spagnolio: von $\frac{1}{30}$ bis $\frac{1}{3000}$. Diese großen Unterschiede in den Agglutinationsresultaten dürften durch den eigentümlichen Verlauf der Krankheit, sowie die individuelle Verschiedenheit der Kranken wesentlich mitbedingt werden. Wie Wright und Stefanelli mitgeteilt haben, tritt eine Erhöhung des Agglutinationsvermögens im Krankenserum bereits im Beginn der Krankheit, vom 5. Krankheitstage an, ein, also früher als man es gewöhnlich beim Typhus findet. Englische, sowie französische Autoren (Basset-Smith, Birt und Lamb, Forster, Sergeant, Edmond und Bories, Nicolle, Aubert, Cantaloube, Thibault usw.) sehen bereits eine Agglutination der Maltafieberbakterien in der Serumverdünnung 1:20 oder 1:30 bei tierischen und menschlichen Seris als diagnostisch verwertbaren Titer an. Diese Angabe muß von vornherein Zweifel an ihrer Richtigkeit erregen, zumal wenn man bedenkt, welche Korrekturen die Angabe

Tabelle II.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Käl	Charité	Auf 50° C erwärmtes Serum
Affe	1:20 +	1:50 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +		
Pferd	1:50 ±	1:50 +	1:20 +				
Rind	1:10 +	1:20 +	1:10 —	1:10 —			
Esel	1:100 +	1:50 +	1:10 +	1:10 +	1:50 +		
		1:100 ±		1:20 ±			
Schwein	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:10 +			
Hammer	1:50 +	1:50 +	1:10 +	1:20 +			
	1:100 ±	1:100 ±	1:20 ±	1:50 ±	1:20 +		
2.	1:50 +	1:50 +	1:10 +	1:10 +	1:20 +		1:10 negativ
3.	1:100 +	1:100 +	1:20 +	1:20 +	1:50 +	1:20 +	1:10 negativ
4.	1:20 +	1:20 +	1:10 —	1:10 +	1:20 +	1:10 —	1:10 negativ
		1:50 ±					
Ziege	1:100 +	1:50 +	1:10 —	1:10 +			
1.	1:200 ±	1:100 ±	1:10 +	1:20 ±			1:10 negativ
2.	1:50 +	1:50 +	1:20 ±	1:10 +			
3.	1:100 ±	1:100 ±	1:10 +	1:10 +			1:10 negativ
4.	1:20 +	1:20 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +		
5.	1:100 +	1:50 +	1:20 +	1:50 +	1:50 +		1:10 negativ
6.	1:200 ±	1:100 ±	1:10 —	1:10 ±	1:100 ±	1:10 +	1:10 negativ
	1:50 ±	1:20 +					
Kaninchen . . .	1:100 +	1:100 +	1:10 —	1:50 +			
1.	1:20 +	1:20 +	1:10 +	1:20 +	1:20 +	1:10 +	1:10 negativ
2.	1:50 ±	1:50 ±					1:10 negativ
3.	1:100 +	1:100 +	1:20 +	1:20 +	1:100 +	1:20 +	1:10 negativ
	1:200 ±		1:50 ±	1:50 ±			
Meer-	1:100 +	1:100 +	1:10 +	1:20 +			
schweinchen	1:50 ±	1:50 +	1:20 +	1:20 +	1:50 +	1:20 +	1:10 negativ
2.	1:100 ±						
3.	1:50 +	1:50 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +	1:10 +	1:10 negativ
		1:100 ±					
Taube	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:20 +	1:20 +	1:10 +	
		1:100 ±		1:50 ±	1:50 ±	1:20 ±	
		1:50 +			1:20 +	1:10 +	

von Widal erfahren hat, daß die Agglutination von Typhusbazillen in der Verdünnung 1:10 eines Krankenserums das Bestehen eines Typhus bei dem betreffenden Kranken sicher bewiese. Es erschien mir deshalb ratsam, zunächst einmal an einer größeren Anzahl normaler tierischer und normaler, sowie auch von verschiedenen Kranken stammender menschlicher Sera ihre Wirksamkeit gegenüber den Erregern des Maltafiebers festzustellen. Die Ergebnisse dieser Versuche sind nicht nur in wissenschaftlicher Hinsicht interessant, sondern scheinen mir auch sehr wichtig für die Praxis zu sein. Die Agglutination habe ich in der üblichen Weise ausgeführt. In je 1^{cem} mit Kochsalzlösung hergestellter fallender Serumverdünnungen wurde 1 Öse 2- oder 3 tägiger Kultur verrieben. Die Röhrchen wurden bei Bruttemperatur (35° C) aufbewahrt. Die Beobachtung geschah nach 24 Stunden makroskopisch. Tabelle II gibt die Agglutinationsresultate wieder, welche ich mit verschiedenen normalen tierischen Seris gegenüber meinen Maltafieberstämmen erhielt. Der Kürze wegen notiere ich nur die Grenztiter, bei welchen die Reaktion noch positiv ausfiel.

Aus der Tabelle II geht hervor, daß normale Sera von Affen, Pferden, Rindern, Eseln, Schweinen, Hammeln, Ziegen, Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben die Maltafieberbakterien z. T. noch in recht erheblichen Verdünnungen 1:100, ja 1:200 agglutinieren können. Die Stärke der Agglutination ist aber bei den verschiedenen Bakterienstämmen verschieden stark, anderseits schwankt sie aber auch bei den Seris verschiedener Individuen desselben Tierstammes nicht unerheblich. Im allgemeinen werden der Wright- und der Nicollesche Stamm am stärksten agglutiniert. Etwas schwächer ist die Agglutinabilität bei dem Krälschen Stamme; die beiden Bitterschen Stämme und der Charitéstamm agglutinieren sehr schwach, in manchen Seris zeigen sie sogar in der starken Konzentration 1:10 überhaupt keine Agglutination. Unter den Seris weisen die von Ziegen und Kaninchen die höchsten Agglutinationswerte auf, bis 1:200, Werte bis zu 1:100 finden wir auch noch bei den Seris von Meerschweinchen, Hammeln und einem Esel; bis 1:50 agglutinierten die Sera eines Affen, eines Pferdes, eines Schweines und einer Taube, während das Serum eines Rindes nur den leicht agglutinablen Stamm Nicolle noch in der Verdünnung 1:20, den Stamm Wright bei 1:10, die übrigen aber überhaupt nicht agglutinierte. Meine Resultate sind sonach etwas verschieden von den Beobachtungen Dr. Konrichs, die er an den Seris verschiedener Haustiere gemacht hat. Nach seinen Feststellungen zeigte sich Agglutination der Maltafieberbakterien wohl in Hühnerserum in der Verdünnung 1:20 und in Pferdeserum bei 1:10, aber nicht in Ziegen-, Esel-, Rinder-, Schweine-, Kaninchen- und Rattenserum. Ob

diese Differenzen auf der verschiedenen Agglutinabilität der von ihm und mir benutzten Bakterienstämme oder dem verschiedenen Verhalten der geprüften Sera beruhen, muß ich dahingestellt sein lassen. Auf die entsprechenden Untersuchungen englischer und französischer Autoren komme ich noch zurück. Weiterhin habe ich 9 normale Sera von gesunden Menschen, 22 Sera von an verschiedenen, nicht infektiösen Krankheiten Leidenden, 8 syphilitische Sera, 9 Sera von Typhuskranken, 10 Sera von Tuberkulösen und 3 Sera von Scharlachkranken geprüft. Kein einziger der diese Sera liefernden Menschen hat je an Maltafieber gelitten.

Tabelle IIIa.

Versuch mit normalen menschlichen Seris.

Nr.	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Krål	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1	1:100 + 1:200 ±		1:10 +	1:20 +		1:50 +	1:10 negativ
2	1:100 +	1:100 +	1:10 + 1:20 ±	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 —	1:10 negativ
3	1:200 +	1:100 + 1:200 ±	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:20 +	1:10 negativ
4		1:100 + 1:200 ±	1:10 —	1:20 + 1:50 ±		1:20 +	
5	1:50 +	1:100 +	1:10 +		1:50 +	1:10 —	1:10 negativ
6	1:100 +	1:100 +	1:10 ±	1:50 +	1:20 +	1:10 ±	1:10 negativ
7	1:100 +	1:100 +	1:10 —	1:50 +	1:100 +	1:10 +	1:10 negativ
8	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:20 + 1:50 ±	1:20 + 1:50 ±	1:10 —	1:10 negativ
9	1:200 +		1:20 +	1:100 +	1:100 +	1:10 +	1:10 negativ

Tabelle IIIb.

Versuch mit Seris, welche von an verschiedenen nichtinfektiösen Krankheiten Leidenden stammten.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Krål	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1.	1:200 +	1:200 +	1:20 +	1:50 +			1:10 negativ
2.	1:50 +	1:50 + 1:100 ±		1:20 +	1:20 + 1:50 ±		
3.	1:100 +	1:100 +	1:10 —	1:20 + 1:50 ±	1:50 + 1:100 ±		1:10 negativ
4.	1:500 +	1:200 +	1:10 +	1:100 + 1:200 ±	1:100 + 1:200 ±		1:10 negativ

Tabelle IIIb.
(Fortsetzung.)

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kräl	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
5.	1:200 + 1:500 ±	1:200 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:100 +		Wright 1:10 ± Nicolle 1:10 ± Kräl 1:10 ± Bitter V 1:10 ±
6.	1:100 + 1:200 ±	1:100 + 1:200 ±	1:10 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +		1:10 negativ
7.	1:100 +	1:100 +	1:10 —	1:50 +	1:100 +		
8.	1:50 +		1:10 + 1:20 ±	1:50 +	1:50 +		
9.		1:100 +	1:10 ±		1:50 +		1:10 negativ Nicolle 1:10 ±
10.	1:20 + 1:50 ±	1:20 +	1:10 —	1:10 + 1:20 ±	1:10 + 1:20 ±		
11.	1:500 +	1:200 + 1:500 ±	1:50 +	1:100 + 1:200 ±	1:200 +		negativ Wright 1:10 ± Nicolle 1:10 ± Kräl 1:10 ±
12.	1:100 +	1:100 +	1:10 + 1:20 ±	1:20 + 1:50 ±	1:50 +		1:10 negativ
13.	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:20 +	1:20 + 1:50 ±		1:10 negativ
14.	1:100 +	1:100 +	1:10 +	1:50 +	1:20 + 1:50 ±		
15.	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:10 —	1:50 +	1:20 + 1:50 ±		
16.	1:50 +	1:100 +	1:10 +	1:20 +	1:20 +		
17.		1:50 + 1:100 ±	1:10 —	1:50 +			
18.	1:50 +	1:50 +	1:10 —	1:20 +	1:20 +		
19.	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 —	1:50 +	1:50 +		
20.	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 +	1:20 +	1:50 +	1:10 +	1:10 negativ
21.	1:100 + 1:200 ±	1:100 + 1:200 ±	1:20 +	1:100 +	1:100 +	1:10 ±	negativ Wright 1:10 ± Nicolle 1:10 ±
22.		1:200 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 + 1:100 ±		1:50 +	1:10 negativ

Tabelle IIIc.
Versuch mit syphilitischen Seris.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Král	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1.	1:50 +	1:50 +	1:10 + 1:20 ±	1:20 + 1:50 ±			
2.	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±	1:10 —	1:10 + 1:20 ±	1:20 +		1:10 negativ
3.	1:100 +		1:10 —	1:50 +	1:20 + 1:50 ±		
4.	1:50 +		1:10 —	1:20 +	1:50 +		
5.	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:10 +	1:20 +	1:50 + 1:100 ±		1:10 negativ
6.	1:200 + 1:500 ±	1:200 +	1:20 + 1:50 ±	1:100 +	1:100 +		
7.	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:10 —	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:20 +	Wright 1:10 ± sonst negativ
8.	1:50 +	1:100 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +	1:10 +	1:10 negativ

Tabelle IIId.
Versuch mit von Tuberkulösen stammenden Seris.

	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Král	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum
1.	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±	1:10 +	1:20 + 1:50 ±			
2.	1:50 +		1:10 —				
3.		1:100 + 1:200 ±		1:20 + 1:50 ±			
4.	1:50 +		1:10 —				
5.		1:200 +	1:50 +				
6.	1:100 + 1:200 ±		1:20 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +		
7.	1:50 +		1:10 —		1:20 + 1:50 ±		
8.		1:100 + 1:200 ±	1:10 + 1:20 ±				
9.		1:100 + 1:200 ±		1:50 +		1:20 + 1:50 ±	1:10 negativ
10.	1:100 +		1:10 —	1:10 + 1:20 ±	1:20 + 1:50 ±	1:10 —	1:10 negativ

Tabelle IIIe.

Versuch mit von Typhus- und Scharlachkranken stammenden Seris.
Typhus.

Nr.	Wright	Nicolle	Bitter III	Bitter V	Kräl	Charité	Auf 55° C erwärmtes Serum	Agglutina- tionstiter gegen Typhus- bazillen
1	1:100 + 1:200 ±	1:100 +	1:10 ±	1:20 + 1:50 ±	1:50 + 1:100 ±			1:80 +
2	1:100 +	1:100 +	1:10 +	1:10 + 1:20 ±	1:100 +			1:80 +
3	1:100 +	1:100 +	1:20 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 +			
4	1:100 + 1:200 ±	1:100 + 1:200 ±	1:10 + 1:20 ±	1:50 + 1:100 ±	1:50 + 1:100 ±			
5	1:100 +	1:100 +	1:10 -	1:20 +	1:20 + 1:50 ±		1:10 negativ	1:80 +
6	1:100 + 1:200 ±	1:100 +	1:10 -	1:20 +	1:50 +		1:10 negativ	
7	1:50 +	1:50 +	1:10 -	1:10 +				1:200 +
8	1:20 + 1:50 ±	1:20 +	1:10 +	1:20 +	1:50 +	1:10 + 1:20 ±	1:10 negativ	1:200 +
9	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:20 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1:10 negativ	1:100 +

Scharlach.

1	1:50 + 1:100 ±	1:50 +	1:10 +	1:20 +				
2	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1:20 +	1:20 +	1:20 + 1:50 +			
3	1:20 +	1:50 +	1:20 +	1:20 + 1:50 ±			negativ Bitter V 1:10 ± Nicolle 1:10 ±	

Aus den Tabellen IIIa bis IIIe ersieht man, daß frische Sera von Menschen, welche niemals an Maltafieber erkrankt waren, die Maltafieberbakterienstämme recht beträchtlich hoch agglutinieren können. Im allgemeinen konnte ich auch hier feststellen, daß die Agglutinabilität des Wrightschen und des Nicolleschen Stammes am stärksten, dagegen die des Stammes Bitter III und des Charitéstammes am schwächsten ist. Der Wrightsche und der Nicollesche Stamm werden von normalem Menschenserum noch bis zur Verdünnung 1:200 agglutiniert, der Krälsche und der Stamm Bitter V bis 1:100 und der Stamm Bitter III, sowie der Charitéstamm bis 1:50. Die Sera der verschiedenen Kranken zeigten ganz ähnliche Resultate; bei einigen von ihnen ging der Agglutinations-

titer sogar noch bis 1:500. Ein Einfluß einer bestimmten Krankheit auf die Höhe des Agglutinationstiters der Sera gegenüber Maltafieberbakterien konnte nicht festgestellt werden, ebensowenig wie ein augenfälliger Unterschied zwischen normalen und Krankenseris zu erkennen ist. Auffallend stark tritt dagegen bei diesen Prüfungen der Unterschied der Agglutinität der untersuchten Maltafieberstämme in die Erscheinung, wie aus der Übersichtstabelle IV. hervorgeht.

Tabelle IV.

Stamm	Zahl der geprüften Sera	Zahl der Sera, welche positive Reaktion in Verdünnungen von 1:10 ab gezeigt haben	Zahl der Sera, welche negative Reaktion in Verdünnungen von 1:10 ab gezeigt haben	Niedrigster und höchster Titer, bei welchem positive Reaktion eintrat	Höhe des Titers, welche die meisten positiven Reaktionen zeigte und Anzahl derselben
Wright .	53	53	0	1:20—1:500	1:100 20
Nicolle .	51	51	0	1:20—1:500	1:100 26
Bitter III	58	36	22	1:10—1:50	1:10 16
Bitter V .	54	54	0	1:10—1:200	1:50 25
Kräl . .	45	45	0	1:20—1:200	1:50 23
Charité .	18	14	4	1:10—1:50	1:10 6

Die Stämme Wright, Nicolle, Kräl und der Stamm Bitter V werden von sämtlichen geprüften menschlichen Seris in der Verdünnung 1:20 und höher agglutiniert. Gegenüber den Stämmen von Wright und Nicolle erreichten die meisten Sera den Titer 1:100, bei den Stämmen Kräl und Bitter V 1:50. Dagegen zeigten gegenüber dem Charitéstamm und dem Stamm Bitter III manche Sera selbst in der Verdünnung 1:10 keine Agglutination; bei den ersteren beträgt die Zahl der negativen Sera 4 von 18 Proben, bei letzterem unter 58 Fällen 22. Beide Stämme werden von den meisten der sie überhaupt agglutinierenden Sera nur bis zur Verdünnung 1:10 beeinflußt. Es bestehen also zwischen den leicht agglutinablen Stämmen Wright, Nicolle, Kräl und Bitter V und den schwer agglutinablen Bitter III und Charité ganz erhebliche Unterschiede in ihrem agglutinatorischen Verhalten gegenüber normalen und nichtspezifischen Kranken-Seris von Menschen.

Diese Resultate stimmen im großen und ganzen mit den von Dr. Konrich gefundenen überein. Er hat bei seinen Versuchen 7 Bakterienstämme von Wright und Nicolle gebraucht und bei allen Agglutination im Menschenserum (hauptsächlich von Tuberkulösen stammend) beobachtet. Der Agglutinationstiter der Sera schwankte nach ihm zwischen 1:20 und 1:500.

Kürzlich haben nun auch Nègre und Raynaud bei der Untersuchung von 39 Seris, welche von gesunden Menschen oder von Kranken (Typhus und fieberhafte Krankheiten) stammten, in 8 Fällen positive Agglutination in der Verdünnung 1:100 und in 14 Fällen bei 1:50 beobachtet, während 22 andere Sera keine Reaktion gaben. Bei 50 Prozent der untersuchten Menschensera haben sie also positive Agglutination konstatiert. Nach Basset-Smith, Zammit und anderen englischen Mitgliedern der Maltafieberkommission dagegen, sowie mehreren französischen (Nicolle, Brault usw.) und italienischen Autoren (Stefanelli, Spagnolio usw.) zeigen die Bakterien in stärkerer Verdünnung als 1:10 bis 1:20 keine Agglutination in gesundem oder in von andersartigen Kranken entnommenem Menschenserum. Diese Autoren (Basset-Smith, Birt, Forster usw.) diagnostizieren deshalb bei Menschen, deren Serum in der Verdünnung von 1:30 gegen Maltakokken positive Agglutinationsreaktion zeigt, Maltafieber oder überstandenes Maltafieber. Dies ist nach unseren an sicher niemals maltafieberkrank gewesenen Menschen gewonnenen Resultaten nicht gerechtfertigt und muß notwendig zu den schwersten Irrtümern führen.

Die englischen Autoren Basset-Smith, Birt und Lamb usw. haben sich zur Anstellung der Agglutination der nach Wright abgetöteten Bakterienemulsion bedient (Erhitzen der Emulsion auf 55°C — eine Stunde lang — und Zusatz von 0.5 Prozent Karbolsäure). Um zu prüfen, ob die Verschiedenheit der Resultate vielleicht hierin ihre Erklärung finde, habe ich auch zur Kontrolle in vielen Fällen mit der vorschriftsmäßig behandelten Emulsion abgetöteter Bakterien Agglutinationsversuche angestellt. Aber die Resultate waren stets dieselben, wie bei den mit lebenden Bakterien ausgeführten Versuchen, wie übrigens auch bereits Wright und Semple angegeben haben. Die einzigen unwesentlichen Unterschiede waren, daß die Zusammenballung der abgetöteten Bakterien viel feinkörniger war und die Reaktion langsamer eintrat.

Ich muß also aus meinen Untersuchungsergebnissen mit Sicherheit folgern, daß frische tierische und menschliche Sera gegen die Maltafieberbakterien normale Agglutinine besitzen, welche je nach dem Falle und den zur Untersuchung benutzten Bakterienstämmen verschieden starke Wirkungen hervorrufen. Auffallend ist, daß der Agglutinationstiter mancher Stämme in normalem Serum eine Höhe erreichen kann, wie man sie bei andern Bakterien nur selten findet.

Was die Sera der Typhuskranken anbelangt, so muß ich auf Grund meiner Untersuchungen (vgl. Tabelle IIIe) sagen, daß sie im Gegensatz zu den von Wright und Smith mitgeteilten Resultaten auch eine bisweilen gar nicht geringe agglutinierende Kraft gegen Maltafieberbakterien

besitzen. Gegen einige Maltafieberstämme wirken sie sogar kräftiger als gegen Typhusbazillen. Auch Nègre und Raynaud erzielten positive Reaktion bei der Mehrzahl der Typhuskranken (unter 18 Fällen 11 positive Sera). Mit einiger Skepsis sind daher die Angaben einiger Autoren aufzunehmen, die auf Grund des Ausfalles der Agglutinationsreaktion mit dem Krankenserum eine Mischinfektion mit Typhus und Maltafieber nachgewiesen haben wollen. So hat z. B. Dreyer eine Mischinfektion mit Typhus und Maltafieber bei einem Kranken in Kairo lediglich auf Grund des Agglutinationsresultats diagnostiziert; und auch Rouslacroix sprach in einem gleichen Falle in Frankreich die Meinung aus, daß entweder eine Mischinfektion stattgefunden, oder daß der Kranke nacheinander an beiden Krankheiten gelitten hätte. Eine Kontrolle dieser Diagnose durch den Nachweis der Maltafiebererreger fehlt in beiden Fällen.

Ähnliche Differenzen wie zwischen den Angaben einiger englischer und französischer Autoren und meinen Befunden an menschlichen Seris ergeben sich auch bezüglich der Sera von normalen Tieren der verschiedensten Spezies, besonders von Ziegen, die bekanntlich in der Epidemiologie des Maltafiebers eine große Rolle spielen. Nach den Veröffentlichungen englischer und französischer Autoren wie Basset-Smith, Sergeant, Edmond, Nicolle, Conseil usw. geben die Maltafieberbakterien in den Seris verschiedener Säugetiere, selbst in starken Serumkonzentrationen (1:10) keine Agglutination. Boycott und Damant haben indessen die Sera von 22 Ziegen untersucht, welche niemals außerhalb Englands gewesen waren, und bei sechs von ihnen einen Agglutinationstiter von 1:20 bis 1:200 gegenüber Maltafieberbakterien gefunden. Conor und Huon haben ebenfalls die Sera von 108 gesunden Ziegen in Marseille geprüft, von welchen 37 = 34.75 Prozent in Verdünnungen von 1:20 bis 1:100 agglutinierten. Trotzdem die genannten vier Autoren bei der Untersuchung der Organe (Milz) dieser Tiere keine Maltakokken feststellen konnten, haben sie doch lediglich auf Grund der Agglutinationsresultate den Verdacht ausgesprochen, daß die Ziegen an Maltafieber gelitten hätten. Eine sichere Feststellung dieser Krankheit bei Tieren, vor allem bei Ziegen, ist von großer Bedeutung, weil durch kranke Tiere — besonders durch Ziegenmilch — die Bakterien auf Menschen übertragen werden können. Basset-Smith und Zammit haben in Malta, Sergeant und Edmond in Algerien, Ziegen, deren Sera in der Verdünnung 1:30 die Bakterien agglutinierten, als an Maltafieber Erkrankte oder als von dieser Krankheit Genesene bezeichnet. Auf gleiche Weise kam die englische Maltafieberkommission zu dem Schluß, daß auf Malta 50 Prozent aller Ziegen, 46 Prozent aller Pferde, 30 Prozent aller Rinder, 23 Prozent aller Katzen und 11 Prozent aller Hunde an Maltafieber entweder noch leiden oder

daran gelitten haben. Die allgemeine Richtigkeit solcher Schlüsse muß ich auf Grund meiner eigenen Beobachtungen an Tieren, die sicher niemals mit Maltafeieberbakterien infiziert waren (vgl. Tabelle II), stark in Zweifel ziehen.

Ohne Zweifel ergeben sich aus der hohen Agglutinationskraft normaler Sera gegenüber Maltafeieberbakterien mancherlei Schwierigkeiten für die Diagnose des Maltafiebers. Doch sind diese, wie wir noch sehen werden, nicht unüberwindbar. Bevor ich aber hierauf eingehe, muß ich zunächst noch über die mit spezifischen Immunseris erzielten Resultate berichten.

Agglutination mit Immunserum.

Bei den folgenden Versuchen habe ich Sera von durch Maltafeieberbakterien immunisierten Kaninchen und Ziegen, sowie von einer Maltafeieberkranken benutzt.

a) Kaninchenimmunserum. Das Immunserum gewann ich, indem ich von den aus der Tabelle V ersichtlichen fünf Bakterienstämmen, welche durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erwärmen auf 60°C abgetötet worden waren, je einem Kaninchen steigende Dosen intravenös injizierte. Als Anfangsdosis nahm ich eine halbe Öse und steigerte die Dosis in fünf Etappen bis zu einer ganzen Schrägagarkultur. Die von den Kaninchen gewonnenen Sera gaben folgende Agglutinationsresultate (s. Tabelle V).

b) Ziegenimmunserum. Ein Ziegenimmunserum, welches ich durch intravenöse Einspritzung des Stammes Bitter V gewonnen hatte, zeigte auch gegen alle Stämme der Maltafeieberbakterien positive Reaktion, gegen den homologen Stamm bei 1:2000 — gegen die anderen Stämme bei 1:2000 bis 1:1000. (S. Tabelle VI.)

Die künstlichen Immunsera zeigten also einen mäßig hohen Agglutinationstiter. Wenn auch der homologe Bakterienstamm stets am stärksten agglutiniert wird, so machen sich doch größere Unterschiede in der Agglutinabilität der verschiedenen Stämme gegenüber ein und demselben Serum nicht bemerkbar.

In den Tabellen V und VI sind in der linken Kolumne die Agglutinationswerte der betreffenden Sera vor Beginn der Immunisierung, in der rechten Kolumne die Werte nach beendeter Immunisierung eingetragen. Vergleichen wir z. B. die beiden Spalten des Kaninchens I. Das normale Serum dieses Tieres hatte die fünf geprüften Stämme teils nur bis 1:20, teils aber bis 1:100 agglutiniert; nach der Immunisierung des Tieres mit dem Stamme Wright schwanken die Agglutinationswerte dieses Serums nur

Tabelle V.

	Kaninchenserum vor der Immunisierung					Sera derselben Kaninchen nach der Immunisierung (mit Stamm)				
	Kaninchen I	Kaninchen II	Kaninchen III	Kaninchen IV	Kaninchen V	Kaninchen I (Wright)	Kaninchen II (Nicolle)	Kaninchen III (Bitter III)	Kaninchen IV (Bitter V)	Kaninchen V (Kräl)
Wright . . .	1:100 +	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:200 +	1:100 +	1:2000 +	1:1000 +	1:2000 +	1:3000 +	1:1000 +
Nicolle . . .	1:100 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:100 + 1:200 ±	1:50 + 1:100 ±	1:2000 +	1:1000 +	1:2000 +	1:3000 +	1:1000 +
Bitter III . .	1:20 +	1:10 +	1:10 —	1:20 +	1:10 +	1:1000 +	1:500 + 1:1000 ±	1:2000 +	1:2000 +	1:1000 +
Bitter V . . .	1:20 +	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1:50 +	1:20 + 1:50 ±	1:1000 +	1:500 +	1:2000 +	1:3000 +	1:1000 +
Kräl	1:50 +	1:50 + 1:100 ±	1:100 +	1:100 +	1:50 +	1:2000 ±	1:1000 +	1:2000 +	1:3000 +	1:1000 +
Charité . . .						1:1000 + 1:2000 ±	1:1000 +	1:1000 + 1:2000 ±	1:3000 +	1:500 + 1:1000 ±

Die Agglutinationstiter der Kaninchen-Immunsera wurden durch $\frac{1}{2}$ stündige Erwärmung der Sera auf 55° C in keiner Weise verändert.

Tabelle VI. Versuch mit Ziegenserum.

S t a m m	Vor der Immunisierung						Nach der Immunisierung						Kon- trolle
	1:10	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
Wright	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bitter III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bitter V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kräsl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Charité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nach 1/2 stündiger Erwärmung auf 55° C ergab das Immuneserum genau das gleiche Agglutinationsresultat wie vor der Erwärmung.

Tabelle VII. Versuch mit dem Serum einer Maltafeberkranken.

S t a m m	Am 25. VI. entnommenes Blutserum							Am 29. VI. entnommenes Blutserum							Kon- trolle	
	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000		
Wright	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bitter III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bitter V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
* Bitter V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kräsl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Charité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Nach 1/2 stündiger Erwärmung auf 55° C gaben beide Sera die gleichen Agglutinationsresultate wie vor der Erwärmung.

noch zwischen 1:1000 und 1:2000. Ganz gleiche Unterschiede finden wir bei den Seris der andern vier Kaninchen vor und nach der Immunisierung. Die größere Gleichmäßigkeit im Agglutinationsvermögen gegenüber den verschiedenen Maltafieberstämmen stellte sich während der Immunisierung der Tiere allmählich ein, indem die gegenüber Normalserum schwer agglutinablen Stämme ihre Agglutinabilität gegenüber dem Serum des geimpften Kaninchens schneller steigerten als die für Normalserum leicht agglutinablen Stämme.

c) Serum einer Maltafieberkranken. Ganz die gleichen Unterschiede in ihrem Verhalten gegenüber den verschiedenen Maltafieberstämmen finden wir auch zwischen den normalen Menschenseris in Tabelle IIIa und dem Serum von der eingangs erwähnten Maltafieberpatientin (s. Tabelle VII). Wir hatten Gelegenheit, zwei ihr zu verschiedenen Zeiten entnommene Blutproben zu untersuchen, bei beiden Proben schwankte der Agglutinationstiter gegenüber allen sechs Stämmen nur zwischen 1:500 und 1:1000, während normale Sera Schwankungen zwischen 1:10 und 1:50 bzw. 1:50 und 1:200 ergeben hatten.

Wir können also aus diesen Untersuchungen den Schluß ziehen, daß verschiedene Stämme von Maltafieberbakterien gegenüber den Agglutininen der Normalsera sehr verschieden empfindlich sind, dagegen von den spezifischen Agglutininen homologer Immunsera recht gleichmäßig beeinflußt werden.

Ein weiterer Unterschied zwischen den Agglutininen der normalen und denen der Immunsera besteht darin, daß die Agglutinine der normalen Sera durch $\frac{1}{2}$ stündige Erwärmung auf 55°C unwirksam werden, während der Agglutinationswert der Immunsera durch eine derartige Behandlung in keiner Weise verändert wird. Schon Bordet hat angegeben, daß das Kaninchen-Normalagglutinin gegen Typhusbazillen bereits bei 55°C unwirksam wird, während das Immunagglutinin eine Temperatur von 58° bis 60°C ohne jede Schädigung verträgt. Ich habe, seinem Vorgange folgend, sowohl tierische und menschliche normale Sera, als auch Sera von verschiedenen Kranken, nachdem ich sie $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 55°C erwärmt hatte, auf lebende und auch auf abgetötete Maltafieberbakterien wirken lassen. Wie in den Tabellen IIIa bis IIIe vermerkt ist, sind die Versuche mit erwärmten normalen Seris fast gänzlich negativ ausgefallen, nur in der Verdünnung 1:10 zeigte sich bei manchen Seris eine ganz schwache positive Reaktion, ein Resultat, das mit den Ergebnissen übereinstimmt, die Nègre und Raynaud kürzlich bei der Untersuchung normaler menschlicher Sera erzielten. Im Gegensatz hierzu sind (vgl. Tabelle V bis VII) die Agglutinationstiter der Immunsera durch diese

Behandlung in keiner Weise verändert worden. Dieses Resultat stimmt mit der Angabe von Basset-Smith überein, daß das Agglutinin des Maltaffieberkrankenserums eine Erwärmung bis 60°C verträgt; ebenso hat Stefanelli festgestellt, daß die agglutinierenden Eigenschaften des Maltaffieberkrankenserums durch 1stündiges Erwärmen auf 50° bis 60° C nicht unwirksam werden. Wir besitzen demnach in dem verschiedenen Verhalten normalen und spezifischen Serums gegenüber verschiedenen Maltaffieberbakterienstämmen einerseits und gegenüber einem einzigen Stamm vor und nach 1/2stündiger Erwärmung auf 55°C andererseits ein zuverlässiges und leicht festzustellendes Unterscheidungsmerkmal zwischen den beiden Serumarten. Diese Tatsache ist für die Diagnose des Maltaffiebers mittels der Agglutinationsreaktion des Krankenserums von größter Bedeutung. Besonders die Verwendung von 1/2 Stunde auf 55°C erwärmtem Serum für die Anstellung der diagnostischen Agglutinationsreaktion dürfte sich zur Differentialdiagnose zwischen fieberhaften Krankheiten (vor allem Typhus) und Maltaffieber empfehlen, sowie auch zur Untersuchung der Sera von Tieren. Denn bei diesen letzteren sollen sich außer allgemeiner Häufigkeit fast keine Krankheitssymptome zeigen; außerdem gelingt es — besonders bei Ziegen — auch nur selten, Maltaffieberbakterien in den Organen nachzuweisen; nach Angabe der englischen Maltaffieberkommission ist dieser Nachweis bei 13 Fällen nur einmal in der Milz und nach Zammit gar bei 46 Fällen nur einmal gelungen. In der Milz verstorbener Menschen dagegen gelingt es stets und aus dem Blute der Patienten nach Shaw bei 68 Prozent die Bakterien nachzuweisen. Auch bei der von mir untersuchten Maltaffieberkranken der Charité gelang es mir leicht, die Krankheitserreger aus dem peripheren Blute zu züchten (vgl. die kurze Beschreibung des Falles am Ende der Arbeit).

Mit dem Stamm Bitter V und dem Nicolleschen Stamm habe ich dann noch dreimal hintereinander Tierpassagen an Mäusen vorgenommen, um festzustellen, ob die Agglutinabilität der Bakterien hierdurch in irgend einer Weise geändert wird. Aber ich konnte keine Veränderung der Agglutinabilität beobachten. Ferner zeigte auch der schwer agglutinable Stamm Bitter III, trotzdem ich ihn während mehrerer Monate regelmäßig in Zwischenräumen von ca. einer Woche weiter überimpfte, stets unverändert dasselbe Verhalten.

B. Komplementhemmende Wirkung.

Sicre hat bei Anwendung der Komplementbindungsmethode nach Bordet und Gengon eine hemmende Wirkung des Serums auf die Bakterienemulsion beobachtet. Auch ich habe meine Stämme und Immunsera mit dieser Methode geprüft. Als Antigen benutzte ich einen

wässrigen Bakterienextrakt. Zur Herstellung desselben verwandte ich eine dreitägige Traubenzucker-Agarkultur in Kollescher Schale, die ich mit 5^{cem} sterilisierten destillierten Wassers aufschwemmte. Die Aufschwemmung schüttelte ich 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur im Schüttelapparate und zentrifugierte sie alsdann. Die Resultate meiner Versuche sind folgende (sämtliche Kontrollen fielen einwandfrei aus):

Tabelle VIIIa.
Versuch mit Kaninchenimmunserum (Wright-Stamm.)

Serum Wright	Extrakt Wright	Extrakt Nicolle	Extrakt Bitter III	Extrakt Bitter V	Extrakt Kräl	Extrakt Charité
0.1	H	H	H	H	H	H
0.05	H	H	H	H	H	H
0.02	H	H	H	H	H	H
0.01	H	S. H.	S. H.	H	S. H.	H
0.005	S. H.	G. K.	G. K.	G. K.	G. K.	G. K.
0.002	G. K.	K. K.	K. K.	K. K.	K. K.	F. K. L.
0.001	F. K. L.	K. L.	K. L.	F. K. L.	K. L.	F. K. L.
0.0005	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
0.0002	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
normales Kaninchen-serum 0.1	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.

Tabelle VIIIb.
Versuch mit Kaninchenimmunserum (Bitter V-Stamm.)

Serum Bitter V	Extrakt Wright	Extrakt Nicolle	Extrakt Bitter III	Extrakt Bitter V	Extrakt Kräl	Extrakt Charité
0.1	H	H	H	H	H	H
0.05	H	H	H	H	H	H
0.02	H	H	H	H	H	H
0.01	H	H	H	H	H	H
0.005	H	S. H.	S. H.	H	S. H.	S. H.
0.002	G. K.	G. K.	G. K.	S. H.	G. K.	G. K.
0.001	K. K.	F. K. L.	K. K.	G. K.	K. K.	K. K.
0.0005	F. K. L.	F. K. L.	K. L.	F. K. L.	F. K. L.	F. K. L.
0.0002	K. L.	K. L.	K. L.	F. K. L.	K. L.	K. L.
0.0001	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.

H = Komplette Hemmung.

S. H. = Starke Hemmung.

G. K. = Hemmung mit großer Kuppe.

K. K. = Hemmung mit kleiner Kuppe.

F. K. L. = Fast komplette Lösung.

K. L. = Komplette Lösung.

Tabelle VIIIc.
Versuch mit Serum von einer an Maltafieber Erkrankten.
(Am 29. Juni entnommen.)

	Extrakt Wright	Extrakt Nicolle	Extrakt Bitter III	Extrakt Bitter V	Extrakt Kräl	Extrakt Charité
0.1	H	H	H	H	H	H
0.05	H	H	H	H	H	H
0.02	H	S. H.	H	H	S. H.	H
0.01	G. K.	G. K.	G. K.	S. H.	G. K.	S. H.
0.005	K. K.	K. K.	F. K. L.	G. K.	K. K.	G. K.
0.002	F. K. L.	K. L.	F. K. L.	K. K.	K. L.	F. K. L.
0.001	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	F. K. L.
0.0005	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
0.0002	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.
normales Menschen- serum 0.1	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.	K. L.

Mit einem wässrigen Extrakt der Bakterien kann man also, wie aus obigen Tabellen hervorgeht, eine komplementbindende Substanz in den mit Bakterien vorbehandelten tierischen Seris, sowie im Krankenserum feststellen. Der Titer der Sera im Komplementbindungsversuch ist unabhängig von der Höhe ihres Agglutinationswertes, wie ein Vergleich der Tabellen VIIIa bis VIIIc mit den Tabellen V und VII lehrt.

Opsonisches Verhalten eines Krankenserums.

Mit dem Blutserum der Kranken und mir selbst entnommenen Blutzellen habe ich auch eine Opsoninbestimmung gegen Maltafieberbakterien ausgeführt, indem ich gleichzeitig als Kontrolle mein eigenes Serum prüfte. Der opsonische Index der Kranken war $\frac{2.44}{1.57} = 1.55$, es war also die phagozytische Kraft im Krankenserum größer als im gesunden.

Krankengeschichte.

Zum Schluß will ich noch eine kurze Mitteilung über die mehrfach erwähnte Maltafieberkranke machen. Eine ausführliche Veröffentlichung über den Fall wird von anderer Seite erfolgen.

Die Kranke, ein 16 Jahre altes Mädchen P. E. aus Kairo, gab an, viel rohe Ziegenmilch getrunken zu haben. Die Krankheit begann am 29. April d. J. mit einer 8tägigen Verstopfung. Im deutschen Hospital in Kairo wurde sie unter der Diagnose „Gastrisches Fieber“ behandelt.

Gleich bei Beginn der Erkrankung stellten sich hohes Fieber (40°C und darüber), Schmerzen in der Leber-, Magen- und Milzgegend, Kopfschmerz und Schweiß ein. Später reiste die Patientin auf ärztlichen Rat nach Deutschland und suchte die Berliner Charité auf. Am 19. Juni d. J. wurde sie hier aufgenommen. Die Patientin sieht anämisch aus, aber ihr Ernährungszustand ist gut. Sie neigt zu Verstopfung. Seit der Aufnahme dauert das Fieber an und schwankt zwischen 39.5° und 37.5°C . Die Milz ist deutlich vergrößert. Patientin hat Schmerzen in der Leber- und Milzgegend. Außerdem klagt sie über Mattigkeit, Kopfschmerz, Schweiß, rheumatische Schmerzen im Ellenbogen, in der Hüfte und im Knie; das rechte Knie war einmal vorübergehend geschwollen.

Am 25. Juni (Fieber 39.2°C) und am 29. Juni (Fieber 39°C) entnommenes Blutserum agglutinierte die Maltafieberbakterien in der Verdünnung 1:500 bis 1:1000 (s. Tabelle VII); Typhus-, Paratyphus A und B-Bazillen hingegen wurden durch beide Sera selbst in der Verdünnung 1:10 nicht beeinflusst. Das am 29. Juni entnommene Blut habe ich auf gewöhnlichem und Traubenzucker-Chapoteaut-Agar ausgestrichen. Auf letzterem wuchsen am 3. Tage (nach 60 Stunden) bei Bruttemperatur äußerst kleine Kolonien und am 4. Tage (nach 80 Stunden) besonders in der Nähe des Kondenswassers zahlreiche, mit der Lupe deutlich sichtbare Kolonien, während auf gewöhnlichem Agar in derselben Zeit nur eine geringe Anzahl von kleinen Kolonien dicht oberhalb des Kondenswassers wuchs. Auch aus Blut, das ich am 18. Juli (Fieber 38°C) während eines Rezidivs der Patientin entnahm, habe ich ebenfalls auf Traubenzucker-Chapoteaut-Agar die Bakterien nach 5 Tagen in Kultur erhalten.

Zusammenfassung.

1. Die Erreger des Maltafiebers sind Bakterien von kurzer Stäbchenform. Ihre Bezeichnung als *Bacterium milletense* ist daher derjenigen als *Micrococcus melitensis* vorzuziehen.
2. Die Bazillen wachsen auf traubenzuckerhaltigen, schwach alkalischen Nährböden am besten.
3. Sie besitzen gegen Nagetiere eine gewisse Pathogenität, und zwar nimmt die Erkrankung den Verlauf einer akuten Sepsis.
4. In gesunden tierischen und menschlichen Seris, sowie in Seris, die von verschiedenen Kranken stammen, — also durch Normalagglutinine — werden die Maltafieberbakterien agglutiniert; jedoch zeigen sie gegen Normalagglutinine je nach dem Stamm und der individuellen Beschaffenheit des Serums verschiedene Agglutinabilität.

5. In Kaninchen- und Ziegenimmunseris und in Serum von Maltafeieberkranken wurden dagegen die von mir untersuchten Bakterienstämme des Maltafiebers fast gleichmäßig agglutiniert. Die Immunsera können einen hohen Agglutinationstiter erreichen.

6. Die Agglutinine im Normalserum werden durch $\frac{1}{2}$ stündiges Erhitzen auf 55°C unwirksam, dagegen werden die Immunagglutinine durch diese Behandlung des Serums nicht verändert. Es empfiehlt sich daher zur diagnostischen Untersuchung eines Krankenserums das Serum vor Anstellung der Agglutination $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 55°C zu erwärmen.

7. Mit einem wässerigen Extrakt von Maltafeieberbakterien kann man mittels der Komplementbindungsmethode das Vorhandensein einer spezifischen komplementbindenden Substanz im Serum feststellen.

8. Der opsonische Index für Maltafeieberbakterien war im Serum der von mir untersuchten Maltafeieberkranken erhöht.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Lentz für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für seine freundliche Förderung derselben meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Literatur-Verzeichnis.

- Bruce, *Practitioner*. 1887.
 Derselbe, *Brit. med. Journal*. 1889.
 Derselbe, *Ebenda*. 1893.
 Derselbe, *Journ. of Royal Army med. Corps*. 1907.
Reports of the Commission appointed by the Admiralty, the war office, and the Civil Government of Malta, for the investigation of Mediterranean Fever under the supervision of an Advisory Committee of the Royal Society. London 1905—1907. Vol. I—VII.
 Eyre, *Proceeding of the Royal Society of Edinburgh*. 1909. XXIX.
 Durham, *Hygien. Rundschau*. 1898.
 Derselbe, *Journal of Pathol. and Bacteriol.* 1898.
 Eyre, *Handbuch für pathogene Mikroorganismen* von Kolle u. Wassermann. Erg.-Bd. I.
 Babes, *Ebenda*. Bd. III.
 Gottschlich, *Ebenda*. 2. Aufl. Bd. I.
 Eyre, *Lancet*. 1908.
 Hughes, *Mediterranean, Malta or undulant Fever*. London 1897.
 Derselbe, *Lancet* 1892.
 Wright and Smith, *Ebenda*. 1897.
 Wright and Semple, *Brit. med. Journal*. 1892.
 Dieselben, *Ebenda*. 1897.
 Dieselben, *Lancet*. 1897.
 Basset-Smith, *Handbuch für Tropenkrankheiten* von Mense.
 Dieselben, *Journ. Trop. med.* 1902.
 Dieselben, *Ebenda*. 1907/08.
 Hayat, *Annales de l'Institut Pasteur*. Tunis 1907.
 Boycott and Damant, *Brit. med. Journal*. 1908.
 Conor et Huon, *Compt. rend. Soc. de Biol.* 1909.
 Nicolle, *Ebenda*. 1904.
 Nicolle et Conseil, *Bull. de la Soc. d. pathol. exot.* 1909.
 Spangnolio, *Reforma medica*. Vol. XXVII. No. 48.
 Konrich, *Diese Zeitschrift*. Bd. XLVI.
 Schilling, *Tropenhygiene*. 1909.
 Scheube, *Handbuch für Tropenhygiene*. 1910.

- Stefanelli, *Revista Critica di clinica Medica*. Jahrg. VIII. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1908. Bd. XLI.
- Nicolle et Hayat, *Compt. rend. Soc. Biol.* 1905.
- Sergent, Edmond et Bories, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1908.
- Birt and Lamb, *Lancet*. 1899.
- Birt, *Ebenda*. 1907.
- Forster, *Ebenda*. 1906.
- Nègre et Raynaud, *Compt. rend. Soc. Biol.* 1911. T. LXX.
- Rousiacroix, *Ebenda*. 1911. T. LXX.
- Dreyer, *Münchener med. Wochenschrift*. 1906.
- Sammelberichte über Maltafieber*. — *Centralblatt f. Bakteriologie*. Ref. 1908/10.
- *Archiv für Schiff- und Tropenhygiene*. Ref. 1900—1911.
- Sicre, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1908.
- Zammit, *Brit. med. Journ.* 1900.
- Horrocks, Kennedy, Zammit, Shaw u. a., *Journ. of the Royal Army med. Corps*. 1906.
- Aubert, Cantaloube, Thébault, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1910.
- Brault, *Arch. gén. de Méd.* 1904.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. II.)

Sämtliche Abbildungen sind in der Vergrößerung 1:1000 von Hrn. Prof. Zettnow aufgenommen worden.

Fig. 1. Maltafieberbakterien nach Zettnow versilbert; nur Stäbchenformen erkennbar.

Fig. 2. Staphylokokken nach Zettnow versilbert; nur Kugelformen erkennbar.

Fig. 3. Maltafieberbakterien von trockenem Agar, oberer Teil einer Schrägagarkultur, mit Fuchsin gefärbt.

Fig. 4. Maltafieberbakterien von feuchtem Agar, von derselben Kultur wie Fig. 3, jedoch dicht oberhalb des Kondenswassers entnommen, mit Fuchsin gefärbt.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.